

## 大气中强致癌物 3-硝基苯并蒽酮 GC/MS 检测方法的建立

李怀建<sup>1</sup>, 吴梅<sup>2</sup>, 张宏伟<sup>3</sup>, 王帮进<sup>1</sup>, 占洁<sup>1</sup>,  
王杨君<sup>1</sup>, 汪午<sup>1,3</sup>

(1. 上海大学环境污染与健康研究所, 上海 200444; 2. 青岛大学医学院, 山东 青岛 266071;  
3. 南方医科大学, 广东 广州 510515)

**摘要:**持久性有机污染物 (POPs) 3-硝基苯并蒽酮 (3-NBA) 是一种极强的直接致突变和致癌物, 多种动物试验以及人体细胞试验证明其具有极强的致突变能力。环境中的 3-NBA 主要来源于机动车尾气和大气光氧化反应, 其在大气中浓度远低于多环芳烃。利用高效液相色谱 (HPLC) 法, 分离、富集目标组分, 再结合气相色谱-质谱 (GC/MS) 技术, 可建立大气中 3-硝基苯并蒽酮的检测方法, 仪器检测限为 13.7 pg, 方法检测限为  $1.9 \text{ pg} \cdot \text{m}^{-3}$ 。方法回收率为 88.52%, 目标化合物回收率为 78.2%。该方法重现性好、测定精度高, 可用于实验室常规分析。

**关键词:**持久性有机污染物 (POPs); 3-硝基苯并蒽酮; 气相色谱-质谱 (GC/MS)

**中图分类号:** O 657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2010)03-0187-05

## Development of Analytical Method for 3-Nitrobenzanthrone, A Potential Carcinogen in Atmosphere by GC/MS

LI Huai-jian<sup>1</sup>, WU Mei<sup>2</sup>, ZHANG Hong-wei<sup>3</sup>, WANG Bang-jin<sup>1</sup>,  
ZHAN Jie<sup>1</sup>, WANG Yang-jun<sup>1</sup>, WANG Wu<sup>1,3</sup>

(1. *Institute of Environmental Pollution and Health, Shanghai University, Shanghai 200444, China;*  
2. *Qingdao University Medical College, Qingdao 266071, China;*  
3. *Southern Medical University, Guangzhou 510515, China*)

**Abstract:** 3-Nitrobenzanthrone, a persistent organic pollutants (POPs), is an extremely potential mutagen and susceptible carcinogen as proved by the tests using both animal and human cells. The major sources of 3-nitrobenzanthrone are believed to be vehicle exhaust from diesel engines, as well as photooxidation reaction in the atmosphere. Its atmospheric concentration is far below polycyclic aromatic hydrocarbons. This paper reported an analytical method that was established by using high pressure liquid chromatography (HPLC) to separate and enrich the target fraction and consequently measured with gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). The instrument detection limit (IDL) is 13.7 pg, and the

收稿日期: 2009-12-30; 修回日期: 2010-03-18

基金项目: 国家自然科学基金 (20677036, 20877051), 上海市教育委员会科研创新项目 (10YZ08), 上海市重点学科 (S30109) 资助

作者简介: 李怀建 (1985~), 男 (汉族), 贵州人, 硕士研究生, 环境科学专业。E-mail: lihuaijian@shu.edu.cn

通信作者: 汪午 (1968~), 女 (汉族), 安徽人, 博士, 从事大气化学研究。E-mail: wangwu@shu.edu.cn

method detection limit(MDL) is  $1.86 \text{ pg} \cdot \text{m}^{-3}$ . The method recoveries for the deuterated surrogate, 1-nitropyrene-d<sub>9</sub>, and 3-nitrobenzanthrone are 88.5% and 78.2%, respectively. The method features good accuracy, precision and reproducibility, and could be used for regular measurements of 3-nitrobenzanthrone.

**Key words:** persistent organic pollutants(POPs); 3-nitrobenzanthrone; gas chromatography-mass spectrometry(GC/MS)

硝基多环芳烃(nitro polycyclic aromatic hydrocarbon, NPAH)是一类极强的直接致突变和致癌物,主要来源于化石燃料的燃烧过程,例如柴油机或汽油机机车燃料燃烧<sup>[1]</sup>;也可以由大气中多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH)与 OH 或者 NO<sub>3</sub> 自由基反应生成<sup>[2-9]</sup>。由于 NPAH 被证明其致突变或致癌能力要比相应的 PAH 高出很多倍<sup>[10]</sup>,所以分析排放源和大气环境中的 NPAH 极为重要。

3-硝基苯并蒽酮(3-nitrobenzanthrone, 3-NBA)于 1997 年在柴油机尾气和大气颗粒物中首次被发现,与 1, 8-二硝基芘的致突变能力相当,后者是文献报道致突变性最强的多环芳烃<sup>[11]</sup>。由于特殊而稳定的环状结构,3-NBA 难以被生物降解。3-NBA 的主要代谢物——3-氨基苯并蒽酮(3-aminobenzanthrone, 3-ABA)曾在受柴油机尾气职业暴露的盐矿工人的尿液中被检出,说明暴露于柴油机尾气中极有可能给大多数人带来健康风险<sup>[12]</sup>。各种生物试验研究表明,3-NBA 及其代谢产物是突变和癌变过程中 DNA 加合物形成的一个关键环节<sup>[13-14]</sup>,这些加合物不仅具有致细胞损伤突变,可参与病变的诱变过程,而且是机体内致癌作用的关键因素。

3-硝基苯并蒽酮在大气环境中的浓度极低,存在于基质复杂的颗粒物中,对大气中 3-硝基苯并蒽酮的测定,由于存在着分析手段和技术方面的挑战,目前报道的并不多<sup>[15-17]</sup>,国内这方面的研究还是空白。本工作利用正相 HPLC 法分离、富集目标组分,结合 GC/MS 技术,建立大气中 3-硝基苯并蒽酮的检测方法。

## 1 试验部分

### 1.1 主要仪器与装置

Waters 2695 高效液相色谱仪;美国 Waters 公司产品,配有 2996 型二级管阵列检测器;气相色谱-质谱联用仪;美国 Hewlett-Packard 公司产品,配有 6890 气相色谱仪/5975 四极杆质谱

检测器和 ChemStation 工作站。

### 1.2 主要材料与试剂

3-硝基苯并蒽酮(纯度 99%);德国环境致癌物生物化学研究所产品;1-硝基芘-d<sub>9</sub>:美国 Chiron 公司产品;二氯甲烷(色谱纯);德国 CNW 公司产品;正己烷(色谱纯);德国 Merck 公司产品;*N,N*-二甲基甲酰胺;美国 Tedia 公司产品。

### 1.3 试验条件

**1.3.1 样品采集及前处理** 使用 PM<sub>2.5</sub> Anderson 大流量采样器(美国),流量  $1.0 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ ,石英纤维滤膜(Whatman, 20.3 cm×25.4 cm),采集时间 24 h。取 1/2 滤膜,先用二氯甲烷提取,再用 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)-H<sub>2</sub>O 系统提取其中的芳烃类和极性化合物,最后用环己烷萃取,得到弱极性的芳烃类化合物。

**1.3.2 仪器分析** 使用正相 HPLC 法,分离、富集目标组分前,先采用环己烷-*N,N*-二甲基甲酰胺-H<sub>2</sub>O 系统萃取 PAH 类化合物,根据质谱特征离子及保留时间进行定性,外标法定量。

**1.3.2.1 HPLC 条件** 分离柱:Kromasil 60-5SIL (250 mm×4.6 mm×5 μm, 60 Å);流动相:正己烷/二氯甲烷;梯度淋洗程序:100%正己烷保持 10 min,5 min 内等梯度变换为 95%正己烷:5%二氯甲烷,35 min 内等梯度变换为 100%二氯甲烷,保持 10 min。收集 40~50 min 之间的组分,其中包含 3-NBA 组分。

**1.3.2.2 气相色谱条件** 色谱柱:Rtx-5MS 石英毛细柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);升温程序:70 °C 保持 1 min,以  $8 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 200 °C,保持 1 min,以  $5 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 260 °C,保持 4 min,以  $1 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 280 °C,保持 1 min,以  $20 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 300 °C,保持 2 min;载气(He);流速  $1.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ;进样量 1 μL,不分流进样。

**1.3.2.3 质谱条件** 电离方式为电子轰击(EI),电子能量 70 eV,接口温度 275 °C,离子源

温度 230 ℃,选择离子模式,质量扫描范围  $m/z$  50~550。

#### 1.4 样品分析全流程的质量控制与质量保证(QA/QC)措施

对每个分析样品(包括样品、方法空白、基质加标、加标空白)都要添加回收率指示物标样,以控制整个分析流程的回收率。

#### 1.5 仪器分析的 QA/QC 措施

连续分析 6 个浓度约为 5 倍噪音的标样,得标准偏差,仪器检测限(IDL) = 3.36 S。在空白滤膜上加标,加标浓度为 5 倍 IDL,重复分析 6 个基质加标样,取得其标准偏差(S),方法检测限(MDL) = 3.36 S。方法检测限以实际样品采样体积计算。

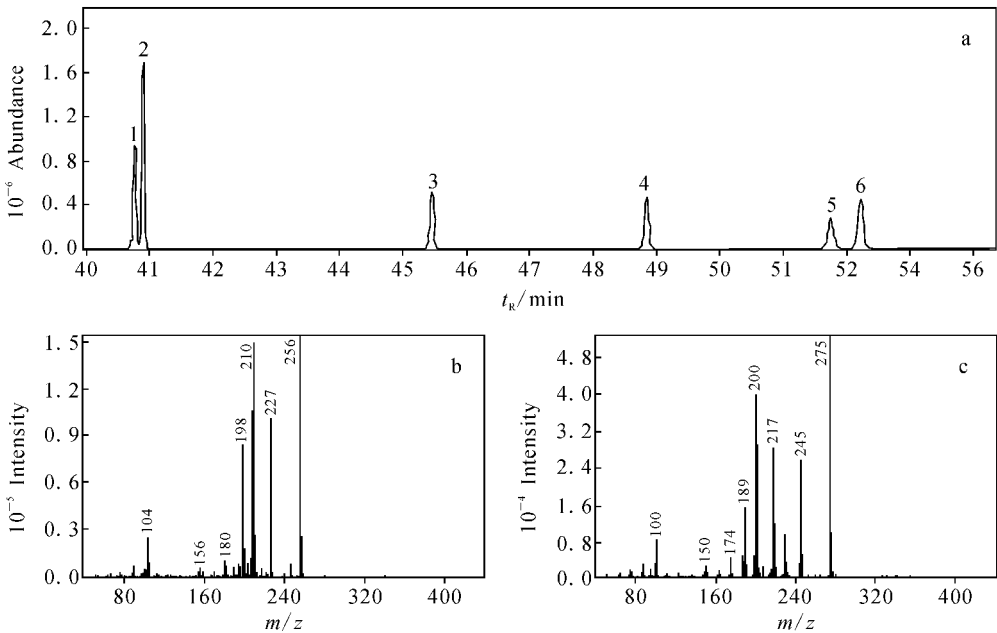
取 5 种浓度为 0.5 ~ 8  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的标样,用外标法建立工作曲线,检测器的响应值与每个浓度的相关系数均大于 0.97。使用已建立的工作曲线测定新配制的已知浓度的标准溶液,测定值与标准值之差在 20% 以内。

## 2 结果与讨论

化合物的 GC/MS 谱图示于图 1,其中相关的有化合物 1 和 5。

### 2.1 仪器检测限和方法检测限

根据分析结果计算,3-硝基苯并蒽酮的仪器检测限值为 13.7  $\text{pg}$ ,按实际采样体积 700  $\text{m}^3$  计算,方法检测限为 1.9  $\text{pg} \cdot \text{m}^{-3}$ ,分别列于表 1 和表 2。



注: 1. 1-硝基苊-d9; 2. 1-硝基苊; 3. 7-硝基苯并(a)蒽; 4. 6-硝基屈; 5. 3-NBA; 6. 2-硝基苯并蒽酮

图 1 标准溶液中目标化合物和内标的 GC/MS 图

a. 色谱图; b. 1-硝基苊-d9 的 EI 质谱图; c. 3-NBA 的 EI 质谱图

Fig. 1 Gas chromatograms and mass spectra for the target compound and surrogate

a. chromatograms; b. electron ionization spectra for 1-nitropyrene-d9; c. spectrum for 3-NBA

表 1 仪器检测限(IDL)

Table 1 Instrument detect limit(IDL)

检测值/ $\text{pg}$						标准偏差	IDL/ $\text{pg}$
ID1	ID2	ID3	ID4	ID5	ID6		
24	29	30	21	20	24	4.08	13.7

表 2 方法检测限(MDL)

Table 2 Method detect limit(MDL)

检测值/ $(\text{pg} \cdot \text{m}^{-3})$						标准偏差	MDL/ $(\text{pg} \cdot \text{m}^{-3})$
MD1	MD2	MD3	MD4	MD5	MD6		
2.2	0.8	1.6	0.9	1.0	1.0	0.5	1.9

## 2.2 方法空白

方法空白的数据用来评估和控制整个试验流程可能发生的人为污染,以及操作过程的准确性,在方法空白中未检出目标化合物,可见整个试验流程对目标化合物没有人为的实验室背景因素影响。

## 2.3 基质加标

基质加标在控制试验流程的基础上还需要考虑基质对试验数据的影响,基质加标回收率列于表 3。计算结果表明,3-硝基苯并蒽酮的基质加标平均回收率为 78.2%,指示物的平均回收率为 76.3%。

表 3 基质加标回收率  
Table 3 Recovery of matrix spike

化合物	检测值/( $\text{pg} \cdot \text{m}^{-3}$ )						回收率平均值/%	相对标准偏差/%
	MS1	MS2	MS3	MS4	MS5	MS6		
3-硝基苯并蒽酮	26.8	31.1	26.4	29.1	26.2	27.8	78.2	6.82
指示物标样	回收率(%,加标量:500 ng)							
1-硝基苊-d <sub>6</sub>	76.6	66.1	81.5	76.0	71.0	86.4	76.3	9.47

## 2.4 平行样品

对同一真实样品进行重复测试,3次测试得到的指示物回收率平均值为 88.5%,相对标准偏差均小于 15%,列于表 4。

表 4 平行样品测试结果

Table 4 Results of sample duplicate

化合物	检测值/( $\text{pg} \cdot \text{m}^{-3}$ )			平均值 pg/m <sup>3</sup>	相对标准 偏差/%
	SD1	SD2	SD3		
3-硝基苯并蒽酮	69.5	53.1	67.6	63.4	14.1
指示物标样	回收率/%				
1-硝基苊-d <sub>9</sub>	86.4	92.9	86.2	88.5	4.29

## 3 结论

本工作建立了大气中 3-硝基苯并蒽酮的检测方法,利用 HPLC 对含 3-硝基苯并蒽酮组分进行分离、富集,再用 GC/MS 法对其进行定量分析。该法具有较好的选择性、重现性和灵敏度,可用于大气中 3-硝基苯并蒽酮的常规检测。

### 参考文献:

[1] PAPUTA-PECK M, MARANO R, SCHUETZLE D, et al. Determination of nitrated polynuclear aromatic hydrocarbons in particulate extracts by capillary column gas chromatography with nitrogen selective detection [J]. Analytical Chemistry, 1983, 55:1 946-1 954.

[2] AREY J, ZIELINSKA B, ATKINSON R, et al. The formation of nitro-PAH from the gas-phase

reactions of fluoranthene and pyrene with the OH radical in the presence of NO<sub>x</sub>[J]. Atmospheric Environment, 1986, 20(12):2 39-2 345.

[3] AREY J, ZIELINSKA B, ATKINSON R, et al. Nitroarene products from the gas-phase reactions of volatile polycyclic aromatic hydrocarbons with the OH radical and N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>[J]. International Journal of Chemical Kinetics, 1989, 21(9): 775-799.

[4] ATKINSON R, AREY J, ZIELINSKA B, et al. Kinetics and nitro-products of the gas-phase OH and NO<sub>3</sub> radical-initiated reactions for naphthalene-d<sub>8</sub>, fluoranthene-d<sub>10</sub>, and pyrene[J]. International Journal of Chemical Kinetics, 1990, 22 (9): 999-1 014.

[5] ATKINSON R, AREY J. Atmospheric chemistry of gas-phase polycyclic aromatic hydrocarbons: formation of atmospheric mutagens[J]. Environmental Health Perspectives, 1994, 102(Suppl4): 117-126.

[6] AREY J. The handbook of environmental chemistry[M]. Berlin: Springer, 1998: 347-385.

[7] ZIELINSKA B, AREY J, ATKINSON R. et al. Reaction of dinitrogen pentoxide with fluoranthene [J]. Journal of American Chemical Society, 1986, 108: 4 126-4 132.

[8] ZIELINSKA B, AREY J, ATKINSON R. et al. Formation of methylnitronaphthalenes from the gas-phase reactions of 1- and 2-methylnaphthalene with OH radicals and N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and their occurrence in ambient air[J]. Environmental Science and Technology, 1989, 23(6): 723-729.

[9] ZIELINSKA B, AREY J, ATKINSON R. Nitroarenes-occurrence, metabolism, and biological

impact[M]. New York: Plenum, 1990: 73.

- [10] DURANT J L, BUSBY W F, LAFFEUR A L, et al. Human cell mutagenicity of oxygenated, nitrated and unsubstituted polycyclic aromatic hydrocarbons associated with urban aerosols[J]. Mutation Research-Genetic Toxicology, 1996, 371(3/4): 123-157.
- [11] ENYA T, SUZUKI H, WATANABE T, et al. 3-Nitrobenzanthrone, a powerful bacterial mutagen and suspected human carcinogen found in diesel exhaust and airborne particulates[J]. Environmental Science and Technology, 1997, 31(10): 2 772-2 776.
- [12] SEIDEL A, DAHMANN D, KREKELER H, et al. Biomonitoring of polycyclic aromatic compounds in the urine of mining workers occupationally exposed to diesel exhaust[J]. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 2002, 204(5/6), 333-338.

- [13] POIRIER M C, SANTELLA R M, WESTON A, et al. Carcinogen macromolecular adducts and their measurement [J]. Carcinogenesis, 2000, 21(3), 353-359.
- [14] ARLT V M, ZHAN L, SCHMEISER H H, et al. DNA adducts and mutagenic specificity of the ubiquitous environmental pollutant 3-nitrobenzanthrone in Muta Mouse[J]. Environmental and Molecular Mutagenesis, 2004, 43(3): 186-195.
- [15] 李怀建,李强,汪午,等. 环境中 3-硝基苯并蒽酮的研究[J]. 化学进展, 2010, 22(1): 220-224.
- [16] 郭丽,惠亚梅,郑明辉,等. 气相色谱-质谱联用测定土壤及底泥样品中的多环芳烃和硝基多环芳烃[J]. 环境化学, 2007, 26(2), 192-196.
- [17] 林刚,孙贵范,田村宪治,等. 抚顺大气悬浮颗粒物、PAHs 和 NPAH 污染调查[J]. 中国公共卫生, 2005, 21(5): 604-606.

(上接第 164 页)

所代表的有色冶金工业排放突出的样品。如果北京市的空气质量管理 and 大气颗粒物污染治理工作的规划和实施综合考虑和兼顾这 4 类典型情况,将更具针对性,有利于提高治理的效率和改进投资的效果。

#### 参考文献:

- [1] 肖锐,李冰,杨红霞,等. 北京市大气颗粒物及其铅的来源识别和解析[J]. 环境科学研究, 2008, 21(6): 148-155.
- [2] 李玉武,刘咸德,李冰,等. 绝对主因子分析法解析北京大气颗粒物中铅来源[J]. 环境科学, 2008, 29(12): 3 310-3 319.
- [3] 董树屏,刘涛,孙大勇,等. 用扫描电镜技术识别广州市大气颗粒物主要种类[J]. 岩矿测试, 2001, 20(3): 202-207.
- [4] LIUX D, ZHU J, VAN ESPEN P, et al. Single particle characterization of spring and summer aerosols in Beijing: Formation of composite sulfate of calcium and potassium[J]. Atmospheric Environment, 2005, 39: 6 909-6 918.
- [5] ZHANG Y P, WANG X F, CHEN H, et al. Source apportionment of lead-containing aerosol particles in Shanghai using single particle mass spec-

trometry [J]. Chemosphere, 2009, 74: 501-507.

- [6] 王芳,陈东升,程水源,等. 基于气流轨迹聚类的大气污染输送影响[J]. 环境科学研究, 2009, 22(6): 637-642.
- [7] 王婉,刘咸德,鲁毅强,等. 北京冬季大气颗粒物中铅的同位素丰度比的测定和来源研究[J]. 质谱学报, 2002, 23(1): 21-29.
- [8] XIAO R, TAKEGAWA N, KONDO Y, et al. Formation of submicron sulfate and organic aerosols in the outflow from the urban region of the Pearl River Delta in China[J]. Atmospheric Environment, 2009, 43: 3 754-3 763.
- [9] 邹本东,徐子优,华蕾,等. 因子分析法解析北京市大气颗粒物 PM<sub>10</sub> 的来源[J]. 中国环境监测, 2007, 23(2): 79-85.
- [10] 陈添,华蕾,金蕾,等. 北京市大气 PM<sub>10</sub> 源解析研究[J]. 中国环境监测, 2007, 22(6): 59-63.
- [11] 陈朝晖,程水源,苏庆福,等. 华北区域大气污染过程中天气型和输送路径分析[J]. 环境科学研究, 2008, 21(1): 17-21.
- [12] 刘咸德,李军,赵越,等. 北京地区大气颗粒物污染的风向因素[J]. 中国环境科学, 2009, (已接收).